

Aus dem Pathologisch-Anatomischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Zur Ultrastruktur hepatozellulärer Karzinome

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Lieselotte Höhn
aus Pirmasens

Mainz 1974

Aus dem Pathologisch-Anatomischen Institut der
Johannes Gutenberg - Universität Mainz

ZUR ULTRASTRUKTUR HEPATOZELLULÄRER KARZINOME

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

Vorgelegt von

LIESELOTTE HÖHN

aus Pirmasens

Mainz 1974

Fachbereichsdekan :

Professor Dr. R. Wolf

Referent :

Professor Dr. A. Schäfer

Korreferent :

Professor Dr. K. Hill



INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG	S. 1 - 4
B. UNTERSUCHUNGSGUT UND METHODE	S. 5 - 6
C. BEFUNDE	
I. F a l l 1	
a) Makroskopische und lichtmikroskopische Befunde der Probeexcision	S. 7
b) Auszug aus dem Obduktionsbericht	S. 8
c) Elektronenmikroskopische Befunde	S. 8 - 12
II. F a l l 2	
a) Makroskopische und lichtmikroskopische Befunde der Teilhepatektomie	S. 12
b) Auszug aus dem Obduktionsbericht	S. 13
c) Elektronenmikroskopische Befunde	S. 13 - 16
D. DISKUSSION DER HISTOLOGISCHEN UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE	17 - 29
E. ZUSAMMENFASSUNG	S. 30

A. EINLEITUNG

Primäre Leberkarzinome gehören zu den am genauesten untersuchten Tumoren, was nicht zuletzt auf die einfache Induzierbarkeit durch verschiedene chemische Stoffe zurückzuführen ist. Besonders die experimentelle Tumorforschung hat deshalb am Leberkarzinom fast modellhaft Fragen der Kanzerisierung nach den verschiedenartigsten morphologischen, biochemischen, histochemischen und ultrastrukturellen Parametern untersucht. (Übersichtsarbeiten: Murray et al., 1968, Svoboda und Higginson, 1968, Higginson, 1970, Becker, 1974). Aber auch die Epidemiologie der menschlichen Lebertumoren mit ihrer relativen Seltenheit in Europa und Nordamerika und der großen Verbreitung in Afrika und Ostasien hat zu statistischen oder deskriptiv kasuistischen Arbeiten angeregt. (Oettle, 1964, Lin, 1966, Doll et al., 1966, Pack und Islami, 1970, Mutt, 1971, Alpert et al., 1971, Anthony, 1973). Trotzdem oder gerade weil primäre Lebertumoren immer wieder als "relativ selten" beschrieben wurden, ist die Literatur unüberschaubar. Bereits 1930 zitiert Herxheimer in einem Handbuchsartikel 550 Arbeiten über den primären Leberkrebs.

Schon sehr früh haben besondere Konstellationen von Symptomen in Verbindung mit Leberkarzinomen das Interesse geweckt. So berichten Nadler und Wolfer (1929) sowie Elliott (1929) zum ersten Mal vom Syndrom einer mit einem Leberkarzinom einhergehenden Hypoglykämie ohne Hyperinsulinismus. Seither ist diese Erkrankung in ungefähr hundert Fällen beschrieben worden, wobei im Vordergrund des Interesses fast immer die pathogenetischen, die Hypoglykämie bedingenden Mechanismen standen (Literaturzusammenstellung: Laurent und Debry, 1970).

Vor allem in den letzten Jahren im Zuge der intensiveren und differenzierteren Erforschung von Tumoren haben sich die Berichte über vergleichbare Krankheitsbilder gemehrt. Hypoglykämien wurden in Verbindung mit einer Vielzahl von Tumoren beobachtet, wobei es sich zumeist um große ausgedehnte, mesenchymale Geschwülste handelt. (Froesch et al., 1963, Fölsch et al., 1964, Rosselin et al., 1967, Froesch et al., 1968, Laurent und Debry, 1969, Frerichs et al., 1969, 1970, Kreisberg und Pennington, 1970). Diese Krankheitsbilder werden häufig mit dem von Uehlinger⁽¹⁹⁶⁶⁾ geprägten Begriff der "Paraneoplasie" zusammengefasst, wobei eine ektopische, d.h. extrapankreatische Insulinproduktion als Ursache der Spontanhypoglykämie angenommen wird. Nach Kracht (1968) sind paraneoplastische Tumoren hormonbildende Geschwülste, die infolge ihrer Hormonproduktion zu Endokrinopathien, also Überfunktionszuständen führen, ohne daß "eine örtliche, funktionelle oder ontogenetische Beziehung zum physiologischen Bildungsort des betreffenden Hormons besteht". Diese Definition impliziert strenge Kriterien zur Anerkennung eines paraneoplastischen Krankheitsbildes. Entgegen dem etwas nachlässigen Sprachgebrauch berechtigt nur der Hormonnachweis im Tumorgewebe, eine erhöhte Hormonkonzentration im Venenblut des Tumors oder Hormonproduktion durch Tumorgewebe in vitro dazu, von einem paraneoplastischen Syndrom zu sprechen. Nun ist eine gesicherte paraneoplastische Aktivität im Sinne einer nachgewiesenen tumorbedingten Insulinproduktion beim primären Leberkarzinom bisher nur einmal beschrieben worden (Colwell und Wilber, 1971). In allen übrigen Fällen mußten zur Klärung der Hypoglykämie andere

pathogenetische Mechanismen herangezogen werden. Neben erhöhtem Glukoseverbrauch durch den Tumor (Mc Fadzean und Yeung, 1956, 1969, Frerichs et al., 1969) wurde eine Hemmung der Glukoseausschüttung der Leber (Landau et al., 1962, Jakob et al., 1967), eine Störung bei der Speicherung oder Mobilisierung von Glykogen (Froesch et al., 1963, 1967, Fölsch et al., 1964), bzw. eine Fehlanpassung alternativer Stoffwechselwege diskutiert. (Kreisberg und Pennington, 1970, Peter et al., 1972, Yeung et al., 1973). Die Vielzahl der Arbeiten läßt bislang lediglich den Schluß zu, daß es multiple, von Fall zu Fall verschiedene, sich in ihren Wirkungen und Wechselwirkungen überschneidende Ursachen der Hypoglykämie gibt. Dies hängt offenbar mit der zentralen Stellung der Leber im Kohlehydratstoffwechsel zusammen. Nicht endokrine, paraneoplastische Aktivitäten des Tumors, sondern durch tiefgreifende Störung des metabolischen Gleichgewichts bedingte Fehlregulationen sind als Ursachen der Hypoglykämie anzusehen.

In den bisher erschienenen Arbeiten über Hypoglykämien in Zusammenhang mit Lebertumoren werden neben der Beschreibung der eindrucksvollen klinischen Symptomatologie vor allem die Ergebnisse der durchgeführten Stoffwechseluntersuchungen, Leberfunktionsproben und enzymdiagnostischen Prüfungen mitgeteilt und diskutiert. Angaben über die Morphologie der Tumoren sind meist sehr spärlich und beschränken sich auf die histologische Diagnose: hepatozelluläres Leberkarzinom. Eine genauere feingewebliche oder ultrastrukturelle Analyse dieser Geschwulste ist bisher nicht durchgeführt worden,

obwohl die Morphologie dieser Tumoren sowohl von theoretischer wie auch praktischer Bedeutung sein könnte. Ergäbe der histologische Vergleich solcher Fälle übergeordnete Klassifizierungsmerkmale, so könnte schon sehr frühzeitig bei der Probebiopsie die Diagnostik spezifiziert und verbessert werden. Darüber hinaus kann die Morphologie, besonders die ultrastrukturelle Untersuchung eventuell Hinweise geben, die zur Aufklärung der Pathogenese der Hypoglykämie beitragen.

Dieses sind die Ansatzpunkte der vorliegenden Arbeit, in der ein primäres mit Hypoglykämien einhergehendes Leberzellkarzinom mit bestimmten morphologischen Besonderheiten histologisch und elektronenmikroskopisch untersucht wird. Der Vergleich mit einem ubiquitären hepatozellulären Karzinom ohne morphologische und klinische Besonderheiten soll Kriterien zur Differenzierung beider Tumorarten liefern. Aus der ultrastrukturellen Analyse erhoffen wir, Aufschlüsse über pathophysiologische Funktionen zu erhalten. Abschließend soll der Versuch einer Zuordnung der in der Literatur beschriebenen hypoglykämieauslösenden Faktoren zu den eigenen morphologischen Befunden unternommen werden.

B. Untersuchungsgut und Methode

Fall 1 (J.Nr. 4 901/71)

Bei einem 36-jährigen Patienten traten 1971, neun Monate vor dem Tode zum ersten Male "Anfälle" von Bewußtseinsstrübung verbunden mit motorischer Unruhe, psychotischer Erregtheit und retrograder Amnesie auf, die schließlich zur Klinikseinweisung und hier zur Diagnose einer Hypoglykämie führten. (Genaue klinische Fallbeschreibung: Krönig und Baas, 1973). Bei der zwei Monate später durchgeführten Laparotomie wurde eine etwa walnußgroße Probeexcision aus der Leber dem Pathologischen Institut zur histologischen Diagnose zugesandt. Der Patient verstarb 1971 (Sektions-Nr. 816/71).

Fall 2 (J.Nr. 5 002/72)

Bei dem 31-jährigen Patienten wurde im März 1972, drei Monate vor dem Tode, eine Teilhepatektomie wegen eines primären Leberzellkarzinoms durchgeführt. Dabei wurde dem Pathologischen Institut während der Operation zwei Gewebstückchen zur Schnellschnittdiagnose zugesandt. Das histologische Untersuchungsmaterial, das postoperativ erhalten wurde, bestand aus einem etwa doppelfaustgroßen Leberpräparat. Der Patient verstarb 1972 (Sektions-Nr. 542/72).

In beiden Fällen wurde das Material zur histologischen Beurteilung in Formaldehyd fixiert und in Paraffin eingebettet.

Färbungen: Mämatoxylin-Eosin, van Gieson, Fett-Sudan, PAS.

Glykogendarstellung: Die PAS-Reaktion (Perjod-acid-Schiff), die zur Darstellung des Glykogens verwendet wurde, gelingt auch am Formalin-fixierten Gewebe gut, wenn die Schnitte nicht auf Wasser, sondern auf 70% Alkohol gestreckt und sofort anschließend auf absoluten Alkohol überführt werden. (Bannasch und Klinge, 1971).

Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurde das Material beider zu vergleichender Tumoren sofort nach operativer Entnahme in kleine etwa 1 - 2 mm³ große Stückchen zerlegt.

Fixierung: 2 Stunden in 4,5 % Glutaraldehyd in Cacodylatpuffer pH 7,3; 24-stündige Spülung in 0,2 m Cacodylatsucrosepuffer; 2-stündige Nachfixierung in 2 % gepufferter Osmiumsäure.

Einbettung: In Durcupan ACM (Fluca).

Zur Objektorientierung wurden zunächst auf dem Ultramikrotom OM₂ (REICHERT, Wien) 0,5 bis 1 / μ dicke Semidünnschnitte angefertigt, die mit einer Mischung von 0,5 % Methylenblau und Azurblaulösung gefärbt wurden. Anhand dieser Schnitte, die lichtoptisch beurteilt wurden, sind bestimmte Bezirke für die elektronenmikroskopische Untersuchung aus dem Gewebe herausgetrimmt worden.

Die Dünnschnitte wurden unter Verwendung von Glasmessern am gleichen Ultramikrotom angefertigt und auf mit Formvar bespannte Kupfernetze gebracht. Die Schnittkontrastierung erfolgte mit Uranylacetat und Bleicitrat, die elektronenmikroskopische Befundung mit dem Elmiskop I (Siemens).

C. Befunde

I. Fall I:

a) Makroskopische und lichtmikroskopische Befunde:

Im Anschluß an die Laparotomie vom 17.III.71 wurde an das Pathologische Institut eine etwa walnußgroße Excision aus der Leber eingesandt (J.Nr.4901/71).

Makroskopischer Befund: Etwa haselnußgroßer, scharf begrenzter und allseits von Lebergewebe umgebener Tumor, auf der Schnittfläche leicht gelappt und deutlich gelb verfärbt.

Histologischer Befund: Zellreicher epithelialer Tumor mit überwiegend fascikulären, stellenweise auch tubulären Strukturen. Große polymorphe und hyperchromatische Zellkerne mit reichlich Mitosen. Das Zytoplasma der Tumorzellen nach Paraffineinbettung und HE-Färbung z.T. eosinophil, in größeren Abschnitten jedoch transparent, pflanzenzellartig (Abb. 1a und b). In der Sudanfärbung an Gefrierschnitten lassen sich im Zytoplasma und in Kern-einschlüssen dieser hellen Zellen reichlich Lipotide in Form kleiner Tropfen nachweisen (Abb. 2a und b). In der normal durchgeführten PAS-Färbung (Strecken der Schnitte auf Wasser) ist die Reaktion in den hellen Zellen negativ. Wird die PAS-Färbung jedoch an Schnitten durchgeführt, die auf 70 %-igem Alkohol gestreckt wurden, so erscheint im Zytoplasma der hellen Zellen eine sehr ausgeprägte feingranuläre, PAS-positive Reaktion. Nach den Angaben in der Literatur (Bannasch und Klinge, 1971) handelt es sich bei diesen Granula um Glykogen (Abb. 3 a und b).

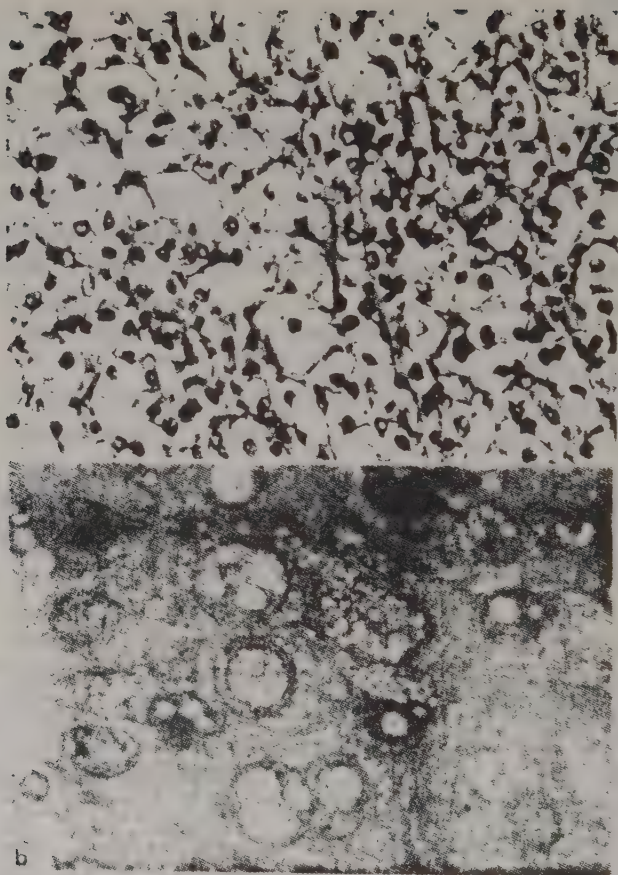


Abb. 1a und b: hellzelliges Leberkarzinom (Fall 1)
im Paraffinschnitt (a) und im Semi-
dünnschnitt (b).

a: Haematoxylin-Eosin-Färbung Vergr. 340

b: Methyleneblau-Färbung " 1400

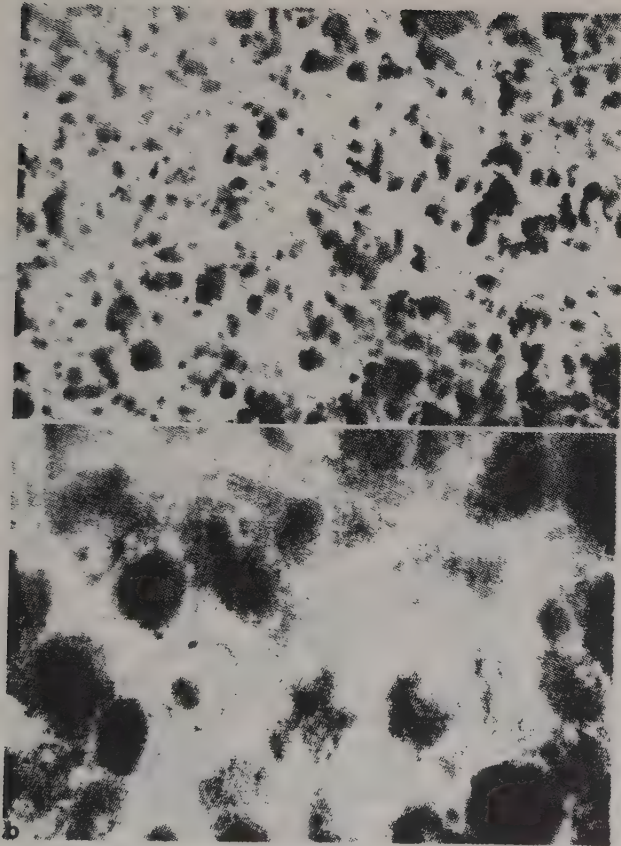


Abb. 2a und b: Feintropfige Lipoideinlagerung in
Zytoplasma und Kernen der Tumorzellen
von Fall 1 in Übersicht (a) und bei
stärkerer Vergrößerung (b).

a: Sudan-Färbung Vergr. 340

b: " " " 1400

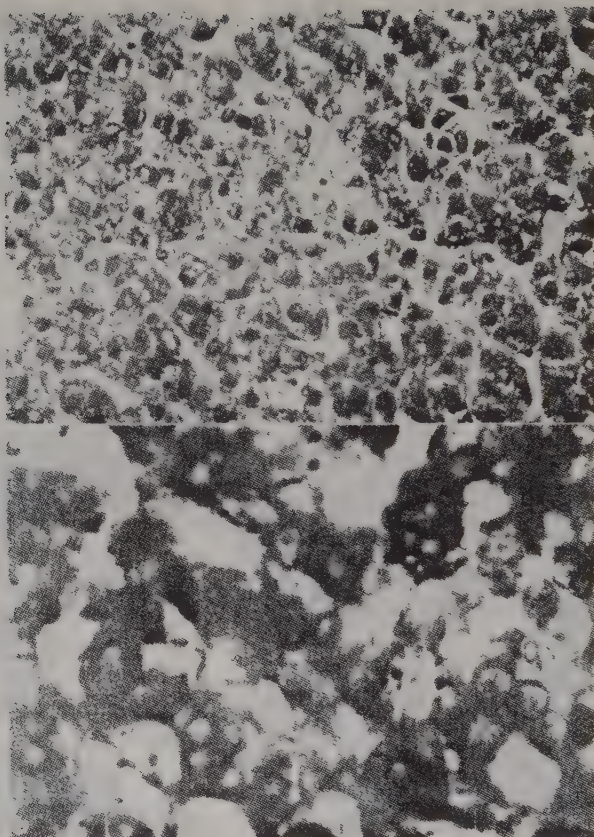


Abb. 3a und b: Glykogendarstellung in den Tumorzellen des Falles 1 mit modifizierter PAS-Färbung. Ausgeprägte PAS-positive Reaktion im Zytoplasma und in Kerneinschlüssen. Vergr. 340 x (a) und 1400 x (b)

In den Semidünnschnitten erkennt man bei stärkerer Vergrößerung im Zytoplasma der beschriebenen hellen Zellen neben größeren und kleineren Vakuolen reichlich schaumartige Strukturen. Vor allem findet man in sehr zahlreichen Zellkernen teils einzelne, teils Gruppen von Vakuolen. (Abb. 1 b).

- b) Auszug aus dem Obduktionsbericht (Sektions-Nr. 816/71):
Faustgroßes hepatozelluläres Karzinom des rechten Leberlappens mit zahlreichen fein- und grobknotigen intrahepatischen Metastasen. Einbruch einer Metastase in die Vena cava inferior. Zahlreiche bis haselnußgroße Metastasen in beiden Lungen. Bohnengroße Metastase in der Wand des rechten Herzvorhofes. Erbsgroße Metastase in der rechten Nebennierenrinde. -

histologische Befunde am Sektionsmaterial:

Im Vergleich mit dem ein halbes Jahr zuvor entnommenen, bioptischen Gewebe treten in dem Tumorgewebe der Autopsie die hellzelligen Areale in den Hintergrund. Der Tumor besteht überwiegend aus trabekulär und tubulär angeordneten Zellen, deren Aussehen Leberzellen ähneln. In dem Primärtumor finden sich ausgedehnte regressive Veränderungen in Form von Nekrosen und Blutungen. Die Morphologie der Tumormetastasen gleicht der des Primärtumors weitgehend. hellzellige Areale finden sich sowohl im Primärtumor, als auch in den Metastasen.

- c) Elektronenmikroskopische Befunde:

Bei dem elektronenmikroskopisch untersuchten Gewebe handelt es sich um Teile des bei der Laparoskopie, ein halbes Jahr vor dem Tod des Patienten aus der Leber entnommenen Tumorknotens. (J.Nr. 4 901/71).

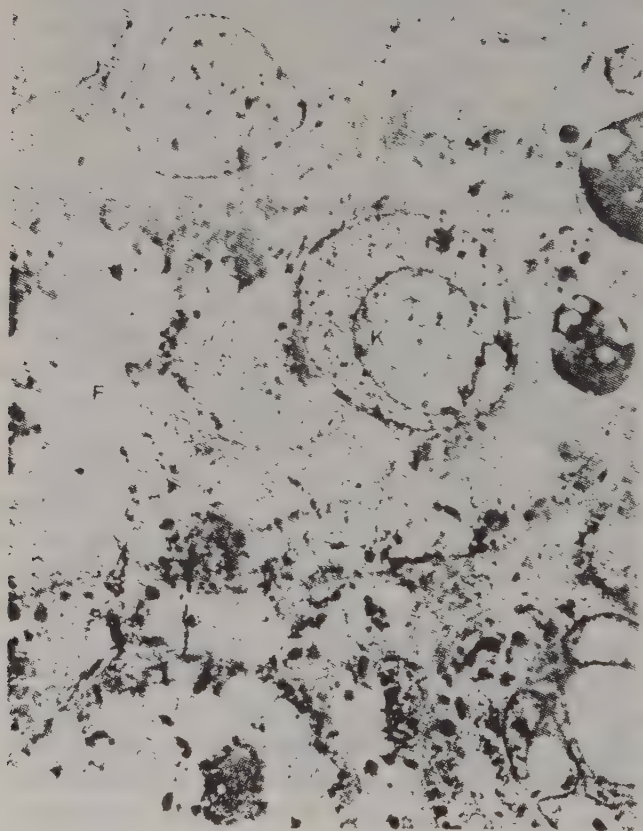


Abb. 4: Elektronenmikroskopische Übersichtsaufnahme
von Karzinomzellen des Falles 1. Anhäufung
von Fettvakuolen (F). Kerneinschlüsse (K).
Arch.Nr. 213/73 EM Vergr. 1400 Ges.Vergr. 3080

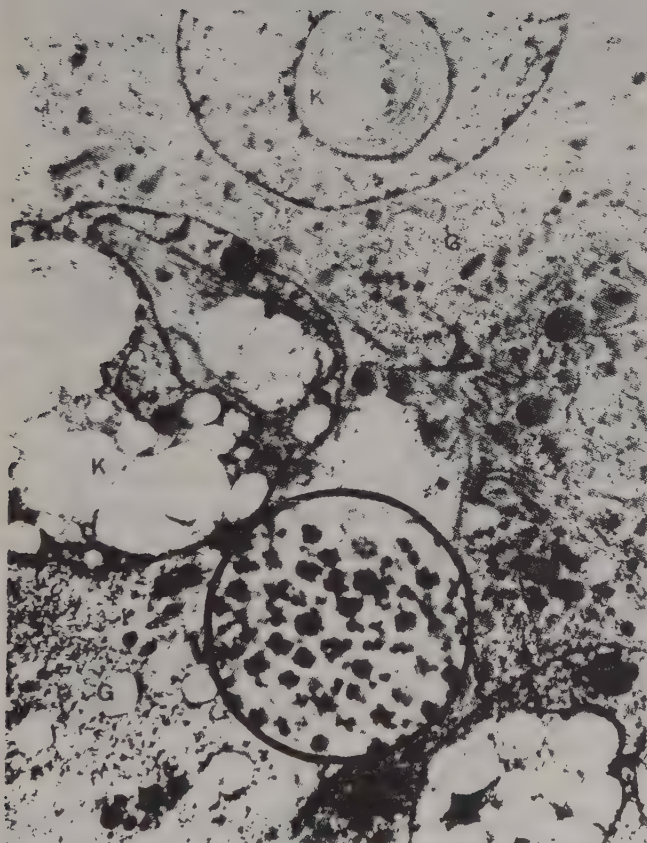


Abb. 5: Kerneinschlußkörper (K) mit Fettvakuolen und Ergastoplasmalamellen. Ausgedehnte Glykogenareale (G), im Inset bei stärkerer Vergrößerung.

Arch.Nr. 253/73 EM Vergr. 2400 und 22000 (Inset)
Ges.Vergr. 5280 und 66000 (Inset)

Die Kerne der Tumorzellen sind durchweg sehr groß und zeigen eine beträchtliche Variationsbreite hinsichtlich ihrer Form und Ausdehnung. Neben runden, ovalären Konturen sind unregelmäßig, bizarr begrenzte Kerne sehr verbreitet. Letztere zeigen manchmal sogenannte Pseudoeinschlüsse oder Zytoplasmakanäle, die auf Einstülpungen der Kernmembran zurückzuführen sind. Die Chromatinschicht an der Innenmembran der Kernhülle, die an zahlreichen Stellen unterbrochen ist, zeigt wechselnd starke Ausprägung. Eine deutliche Verbreiterung dieser elektronendichten "Kernschale" (Cossel, 1964) ist vor allem bei den polymorphen Zellkernen nachweisbar. Kernporen, die in völlig unregelmäßigen Abständen auftreten, sind bei fast allen Zellen zu beobachten.

In den meisten Kernen finden sich Anschnitte von ein oder seltener zwei Nukleolen. Die Form der Kernkörperchen variiert von oval über rund bis unregelmäßig länglich, die Lage ist zumeist exzentrisch. Auffällig ist ihre Größe. Die Beschaffenheit erscheint bei kleinerer Vergrößerung oft kompakt, bei höherer Auflösung treten die Nukleonemata deutlich hervor, die dem Kernkörperchen eine netz- oder knäuelartige Struktur verleihen.

Die Zahl der Mitochondrien ist im Vergleich zur normalen Leberzelle nicht erhöht, doch lassen sich deutliche Unterschiede in ihrer Verteilung feststellen. Sie treten vermehrt in Nachbarschaft vakuolisierter Zellkerne auf und lassen sich auch im Randbereich ausgedehnter Glykogenareale häufiger nachweisen. Die Form

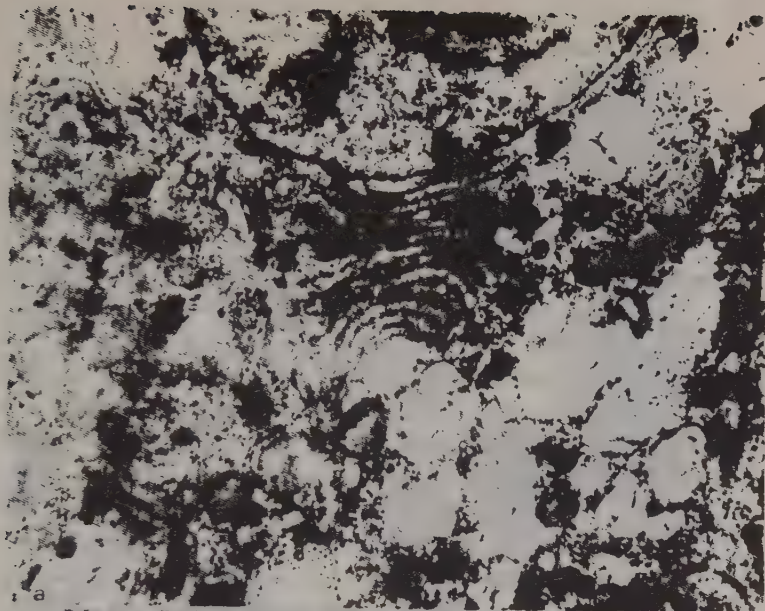


Abb. 6a und b: Zellorganellen aus Karzinomzellen des Falles
Lamelläre Ergastoplasmaformation (E), Mitochondrien (M) mit degenerativen Veränderungen
und feingranuläre Glykogeneinlagerung (G).

a: Arch.Nr. 12/73 EM Vergr. 5000 Geß.Vergr. 12500

b: " " 263/73 EM " 23000 " " 46000

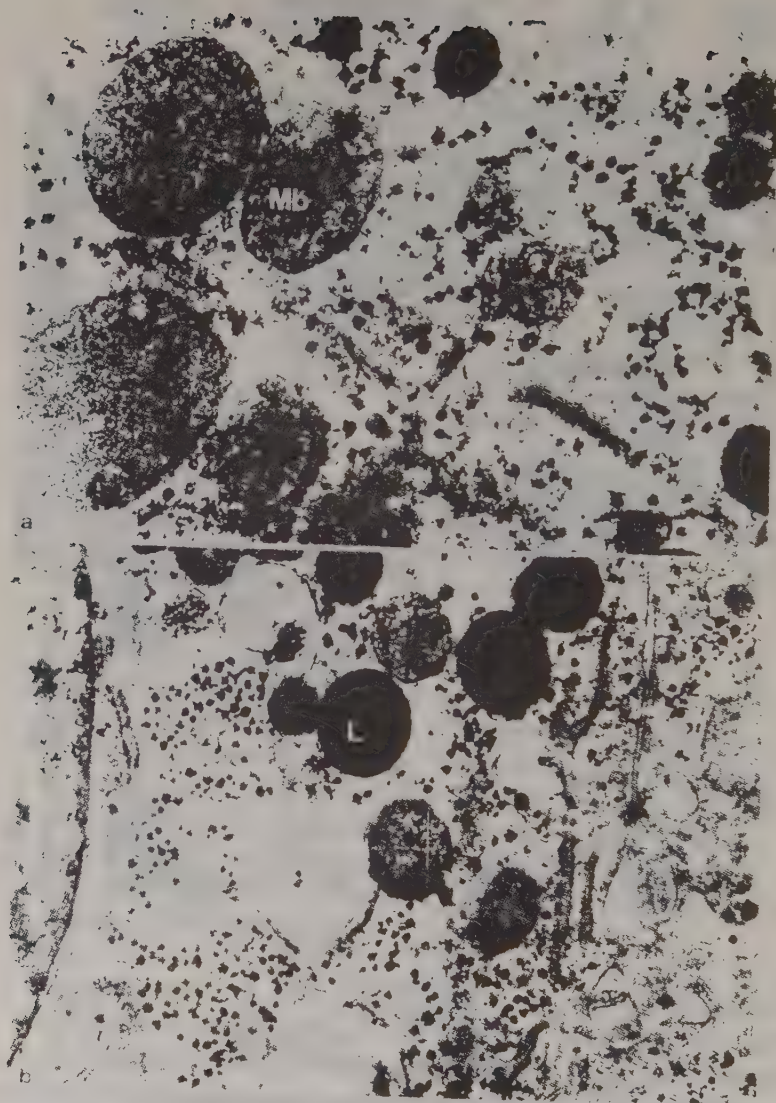


Abb. 7a und b: Microbodies (Mb) und Lysosomen (L) sowie
reichlich Glykogengranula in Karzinom-
zellen des Falles 1

a: Arch.Nr. 244/73 EM Vergr. 22000 Ges. Vergr. 44000

b: " " 252/73 EM Vergr. 15000 Ges.Vergr. 30000

ist ovalär bis rundlich, wobei vor allem die Schwellung, d.h. Vergrößerung mit einer Zunahme der runden Formen einhergeht. Degenerative Veränderungen mit untergehenden Mitochondrien, bei denen es zum Zerreißen der Außenmembran und partieller Auflösung mitochondrialer Bestandteile kommt, sind ebenfalls zu beobachten (Abb. 6 b).

In enger Nachbarschaft zu den Mitochondrien findet man in großer Zahl Zellorganellen, die nach ihrem Aussehen zu der heterogenen Organellengruppe der L y s o s o m e n zu rechnen sind. Es handelt sich zum Teil um bis 0,5 μ große, häufig von einer doppelten Membran umgebene ovale Organellen mit einer wechselnd dicken Matrix, die primäre Lysosomen darstellen.

Andere Organellen sind in ihrer Größe und Form den Mitochondrien ähnlich, besitzen jedoch eine sehr elektronendichte Matrix, häufig mit kristallartigen Strukturen und fehlenden Cristae. Dabei handelt es sich um M i c r o b o d i e s. Gelegentlich erkennt man auch sekundäre Lysosomen (Zytolysosomen, Phagosomen). Es handelt sich dabei um größere elektronendichte Gebilde, die ganze Zytoplasmaareale einschließen und in denen man häufig in Auflösung befindliche Zellorganellen und Myelinlamellen findet (Abb. 7 b).

Das e n d o p l a s m a t i s c h e R e t i k u l u m zeigt ein deutliches Überwiegen der granulären Anteile. Die Ergastoplasmalamellen sind parallel, manchmal auch zu halbkreisförmigen Figuren angeordnet (Abb. 6 a).

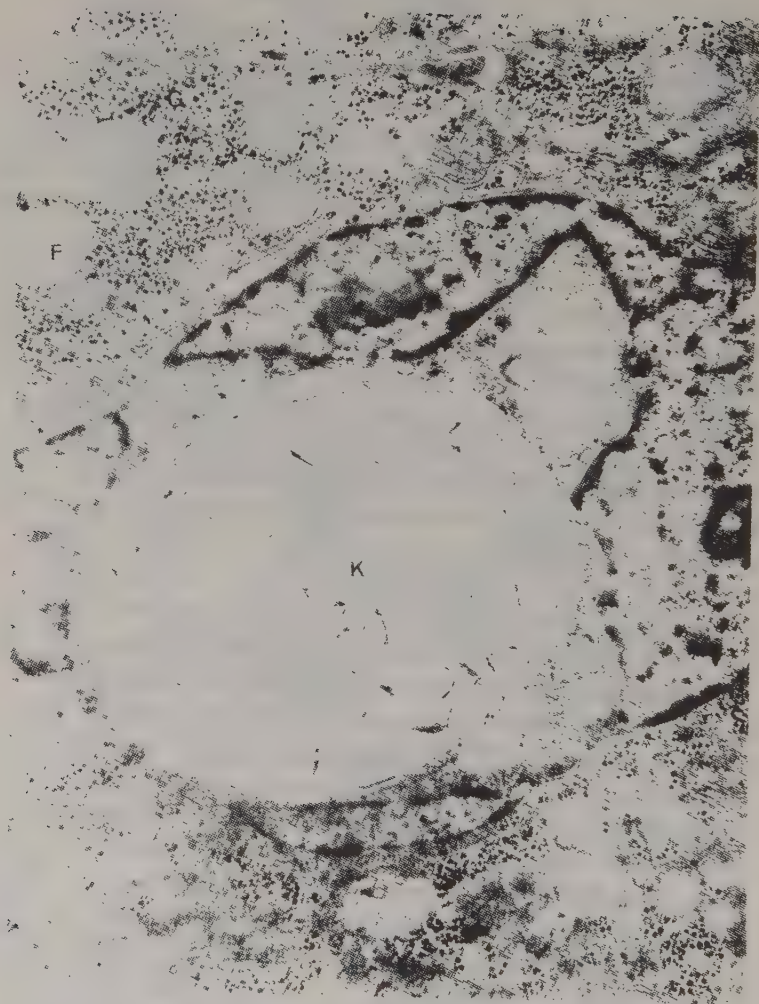


Abb. 8: Glykogenareale (G), Fettvakuolen (F), Kern-
einschlüsse mit Membranresten durchsetzt (K)
Arch.Nr. 259/73 EM Vergr. 22000 Ges.Vergr. 55000

mäufiger aber ist das endoplasmatische Retikulum segregiert. Einzelne, oft bruchstückhafte Lamellen sind ungeordnet im Zytoplasma zerstreut. Ein gehäuftes Vorkommen der granulären Strukturen in Nachbarschaft vakuolenreicher Zytoplasmabezirke ist auffällig.

Der G o l g i A p p a r a t läßt gegenüber normalem Lebergewebe keine Besonderheiten erkennen.

G l y k o g e n p a r t i k e l liegen zu rosettenartigen Aggregaten angeordnet im Zytoplasma. Areale deutlicher Glykogenanhäufung, die in konfluierenden flächenhaften Ausbreitungen vorkommen, wechseln mit Zellbereichen, in denen weniger Glykogengranula nachweisbar sind, ab. Eine ausgeprägte Glykogenvermehrung findet sich bei einigen Tumorzellen in direkter Nachbarschaft größerer vakuolisierter Bezirke (Abb. 5). Der einzelne Glykogenpartikel, auch als Beta-Partikel bezeichnet, weist isodiametrische Form, eine unregelmäßige Kontur und eine Größe von 150 bis 300 Å im Durchmesser auf.

Abschließend sollen einige Besonderheiten der Tumorzellen, die z.T. bereits erwähnt wurden, noch einmal zusammenfassend hervorgehoben werden.

Eine auffällige Erscheinung vieler Zellkerne sind die Kerneinschlüsse, auch Pseudoeinschlüsse genannt, die auf Invaginationen der Kernmembran beruhen. Je nach Schnittebene imponieren diese Zytoplasmaeinstülpungen als "echte Einschlusskörper" oder als unterschiedlich tiefe und verschieden geformte Einbuchtungen des Zellkerns, deren Verbindung mit der Kernhülle noch

deutlich erkennbar ist. Bei den Einschlüssen handelt es sich durchwegs um Zytoplasma bzw. zytoplasmatische Organellen wie Mitochondrien, Lysosomen, Ergastoplasma-lamellen oder RNS-Granula, die intakt oder auch degeneriert verändert sind.

Ein weiteres auffälliges Merkmal des Tumors ist die Vakuolisierung des Zytoplasmas (Abb. 4, 7, 8). Einzelnen, häufiger aber nesterartig in Gruppen angeordnet, grob- oder feintropfig mit beträchtlichen Größenunterschieden sind die Vakuolen scheinbar ungeordnet über Karyo- und Zytoplasma der Zellen verstreut. Die Form variiert von rund über oval bis länglich, die Konturen sind zum Teil deutlich und scharf, häufiger aber undeutlich und zusammenfließend. Umgrenzende Membranen sind nicht erkennbar, vielmehr erscheinen die Vakuolen, besonders bei kleinerer Vergrößerung als Ausstanzungen, als mehr oder minder deutlich konturierte Löcher, die elektronenoptisch leer sind. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man den Konturenverlust. Wolkig, wabig aufgelockert, unscharf begrenzt von einem amorphen Material erfüllt, das zum Teil mit sich auflösenden, zerfaserten Membranen durchsetzt ist, scheinen die Vakuolen Ausdruck degenerativer Veränderungen zu sein.

II. Fall 2

a) Makroskopische und lichtmikroskopische Befunde:

In dem doppelfaustgroßen Gewebe der Teilhepatektomie, die drei Monate vor dem Tode des Patienten durchgeführt wurde, war ein faustgroßer und ein etwas kleinerer Tumorknoten umgeben von Leberparenchym vorhanden.

Histologisch handelt es sich um trabekulär aufgebautes Tumorgewebe, das den Bau von Leberzellbalken nachahmte, jedoch deutliche Zeichen der Atypie erkennen ließ.

An der Grenze zum normalen Lebergewebe infiltrierendes und destruierendes Wachstum. Im Gegensatz zu dem Leberzellkarzinom des Falles 1 fehlen hier hellzellige Areale vollständig (Abb. 9). In der Fettfärbung sind nur in einzelnen Zellen fetthaltige Vakuolen darstellbar. Mit der PAS-Reaktion sind keine Glykogenablagerungen nachweisbar.

b) Auszug aus dem Obduktionsbericht (Sektions-Nr. 542/72):

Zustand nach Teilhepatektomie. Zahlreiche bis faustgroße Tumorknoten mit ausgedehnten regressiven Veränderungen in Form von Nekrosen und Blutungen in der Restleber. Einbruch des Tumors in die Vena portae. Ausgedehnte Metastasen in den regionären Lymphknoten und in allen Lungenlappen. Die Histologie des Tumorgewebes vom Sektionsmaterial erbringt die gleichen Befunde wie bei der Teilhepatektomie.

c) Elektronenmikroskopische Befunde:

Bei dem elektronenmikroskopisch untersuchten Gewebe handelt es sich um Teile von bei der Teilhepatektomie als Schnellschnitt eingesandtem Gewebe.

Die Z e l l k e r n e sind unregelmäßig geformt, pleomorph und stark vergrößert. Auffällig ist die chromatinreiche, granuläre Innenstruktur der Kernmatrix mit deutlich verbreiteter Kernschale. Sehr elektronendichte kleine bis mittelgroße Chromatinansammlungen sind über das Karyoplasma verstreut. Häufig lassen sich zwei Kerne pro Zelle beobachten. Die Kernmembran ist in der Regel uneben, die Konturen erscheinen gewellt bis gezähnt. Vereinzelt führen Einstülpungen der Membran zu zytoplasmatischen Kerneinschlüssen.

Die N u k l e o l i (Abb. 10), die oft zu mehreren in einem Kern vorkommen, sind sehr prominent und gegenüber der normalen Leberzelle deutlich vergrößert. Die netzartig verzweigten Nukleolonemastränge, die zu unregelmäßig geformten, knäuelartigen Ansammlungen angeordnet sind, breiten sich häufig über große Areale des Zellkerns aus. Manchmal treten sie mit den im Karyoplasma verstreuten Chromatinanhäufungen in Verbindung, so daß der von Fawcett (1973) geprägte Begriff des Nukleolarapparates anwendbar ist.

Die M i t o c h o n d r i e n (Abb. 11) zeigen eine große Variabilität hinsichtlich Form, Größe und Anzahl. In einigen Tumorzellen sind sie vermehrt, vergrößert, rund bis oval mit regelrechter Anordnung der Cristae. Daneben kommen kleine, verdichtete Mitochondrien mit rudimentären oder ganz fehlenden Cristae vor. Manchmal sind die Cristae zu parallelen Längs- oder Querbündeln umgelagert, manchmal erscheinen sie regellos in der Matrix verstreut. Im Bereich des desorganisierten endoplasmatischen Retikulums finden

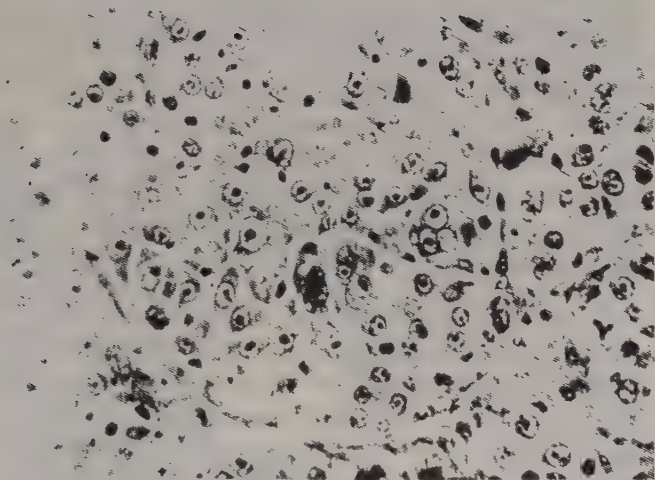


Abb. 9: Hepatozelluläres Karzinom (Fall 2)
Semidünnschnitt Vergr. 340

sich häufig degenerativ veränderte und untergehende Mitochondrien mit ausgeprägtem Matrixödem und sich auflösenden Cristae.

Das e n d o p l a s m a t i s c h e R e t i k u l u m (Abb. 12) zeigt mit dem Verlust seiner hochorganisierten Struktur die deutlichsten Veränderungen aller Zellorganellen. Das g l a t t e endoplasmatische Retikulum ist durch Dilatation und Proliferation charakterisiert. Seine Tubuli sind vakuolig aufgetrieben, erscheinen im Querschnitt bläschenförmig erweitert, von runder bis ovaler Form.

Noch deutlicher ist die Disorganisation des r a u h e n endoplasmatischen Retikulums. Die parallele Anordnung der Ergastoplasmalamellen ist verschwunden. Die Zysten sind stark erweitert, oft vesikularisiert und bilden ein bizarres, labyrinthartiges System kommunizierender Räume. Es lassen sich massenhaft freie Ribosomen, häufig rosettenartig zu Polysomen angeordnet im Zytoplasma finden.

Die G o l g i A p p a r a t e sind regelrecht ausgebildet und weisen keine pathologischen Veränderungen auf.

Perikanalikuläre "dense bodies", Microbodies, die der biologischen Fraktion der L y s o s o m e n zuzuordnen sind, lassen sich in den meisten Tumorzellen nicht nachweisen oder sind in ihrer Gesamtzahl deutlich verringert.

Auch der zweite Tumor zeigt auffällig viele Vakuolen, die sich jedoch in Anordnung, Form und Gesamteindruck

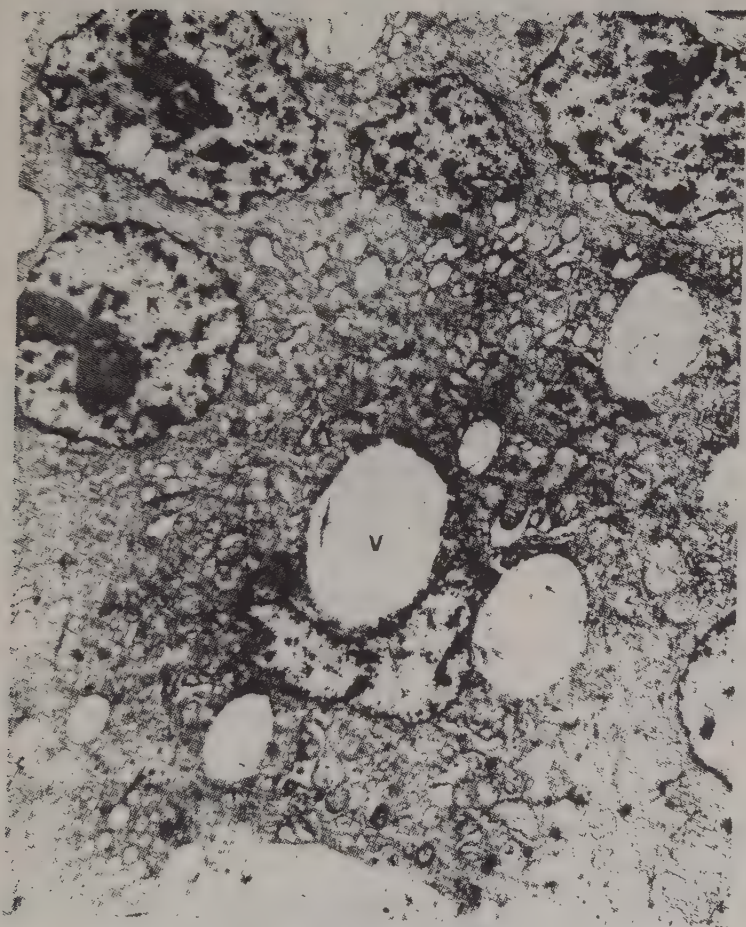


Abb. 10: Elektronenmikroskopische Übersichtsaufnahme von Karzinomzellen des Falles 2. Kerne mit prominenten Nukleoli (K). Einzelne Riesenvakuolen (V).

von denen des Falles 1 unterscheiden. Nicht die kleinblasige, dicht gepackte, nesterartige Vakuolenansammlung beherrscht das Bild, sondern einzelne manchmal fast kerngroße Riesenvakuolen dominieren. Daneben finden sich kleinere, manchmal zu losen Gruppen angeordnete Vakuolen, die häufig von einem stark dilatierten endoplasmatischen Retikulum umgeben sind. Eine Vakuolisierung der Zellkerne läßt sich nicht beobachten. Auffällig ist der schon bei kleinerer Vergrößerung sichtbare schollige membranöse Inhalt der Vakuolen, der diesen ein aufgelockertes wolkenartiges Aussehen verleiht. Bemerkenswert ist auch das völlige Fehlen von G l y k o g e n - Partikeln.

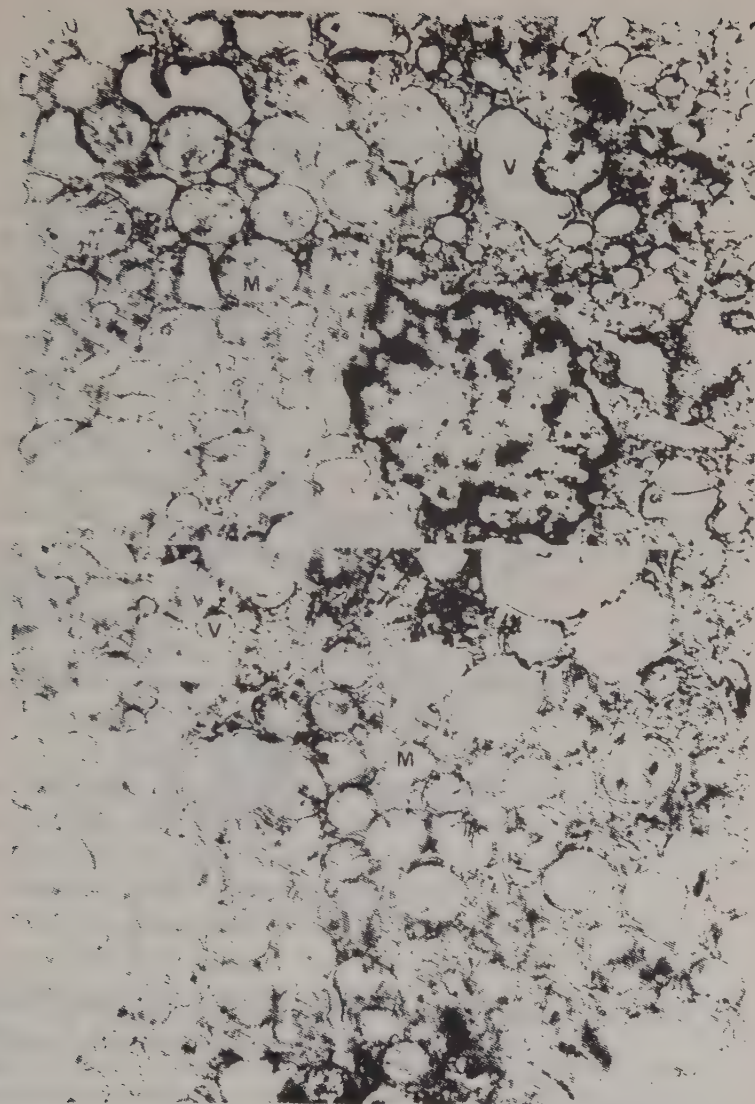


Abb. 11: Reichlich Mitochondrien (M) und einzelne endoplasmatische Vakuolen (V) in einer Karzinomzelle des Falles 2.

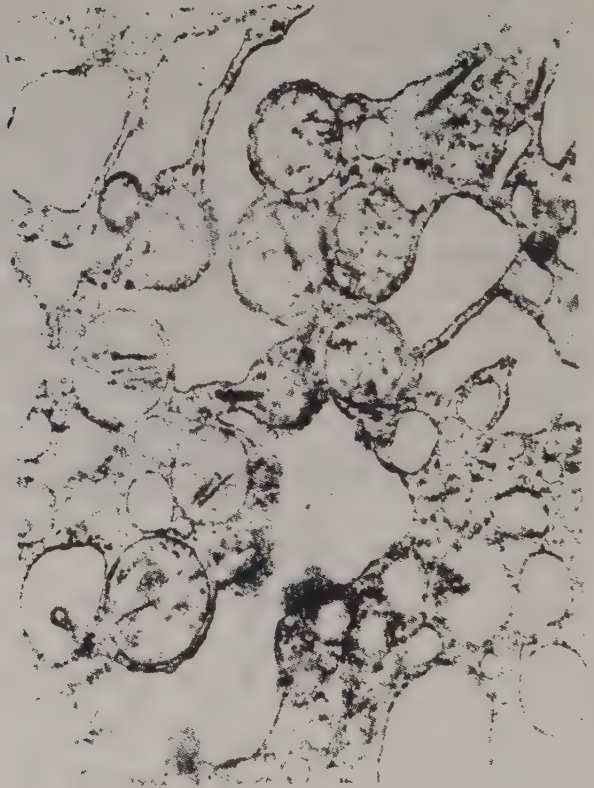


Abb. 12: Ausgeprägte Disorganisation des endoplasmatischen Retikulums mit Dilatation und Vesikulation

Arch.Nr. 277/73, Journal-Nr. 5002/72 EM Vergr. 10000
Ges.Vergr. 20000

D. Diskussion der histologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungsergebnisse

Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung des Tumorgewebes von Fall 1 fiel zunächst die "hypernephroide", d.h. klarzellige, zytoplasmareiche Struktur auf, die dann auch zur Verdachtsdiagnose eines hypernephroiden Nierenkarzinoms oder eines echten Nebennierenrindenkarzinoms führte.

Nach Anthony (1973) ist dieser seltene Typus von Leberzellkarzinomen von den klarzelligen Adenokarzinomen der Niere oft nicht zu unterscheiden, vor allem wenn es sich um Biopsiematerial handelt. Hamperl (1970) weist nach, daß diese Lebertumoren, die häufig fälschlich für echte Hypernephrome der Leber oder echte adrenale Resttumoren gehalten werden, sämtlich Leberzellkarzinome sind, deren morphologische Ähnlichkeit mit Nierenkarzinomen jedoch die Diagnose sehr erschwere.

Köhn (1955) führt das wabige Aussehen der Tumorzellen auf einen erhöhten Fett- und Lipoidgehalt sowie eine "gewisse vakuolige Degeneration" zurück, während Bannasch (1968), Hamperl (1970), O'Connor et al. (1972) sowie Anthony (1973) einen erhöhten Glykogengehalt für die wasserklare, transparente Zytoplasmastuktur verantwortlich machen.

Bei unserem Tumor lagen, wie Fett- und PAS-Färbung ergaben, sowohl eine vermehrte Glykogenspeicherung wie eine deutliche Verfettung vor. Das gemeinsame Auftreten beider Speicherformen in Verbindung mit

primären Leberzellkarzinomen ist unseres Wissens bisher nicht beschrieben worden, und es liegt nahe, einen Zusammenhang mit der hypoglykämieauslösenden Funktion des Tumors zu vermuten. Nun sind, wie einleitend ausgeführt, mit Nadler-Wolfer-Elliott-Syndromen einhergehende Leberkarzinome histologisch und elektronenmikroskopisch bisher nicht untersucht worden, d.h. direkte morphologische Vergleichsmöglichkeiten fehlen. Allerdings sind auf Grund klinischer, enzymdiagnostischer und biochemischer Verfahren Überlegungen und Hypothesen über mögliche Ursachen der Hypoglykämien angestellt worden, die im folgenden in Bezug auf unsere eigene Ergebnisse diskutiert werden.

Einen allgemein gültigen pathogenetischen Mechanismus der Hypoglykämieauslösung gibt es nicht; vielmehr erscheinen multiple Stoffwechselstörungen und -entgleisungen für das Auftreten der Spontanhypoglykämien verantwortlich zu sein (Kreisberg und Pennington, 1970). Am häufigsten werden exzessiver Glukoseverbrauch durch den Tumor, eine gestörte Glukoneogenese der Leber, eventuell infolge Reduktion des funktionellen Leberparenchyms, sowie verstärkte Glykogensynthese bzw. mangelnde Glykogenolyse als Ursachen beschrieben (Mc Fadzean und Yeung, 1956, Landau et al. , 1962, Froesch et al., 1963, Fölsch et al., 1964, Rosselin et al., 1967, Anderson et al., 1967, Jakob et al., 1967, Froesch et al., 1968, Laurent und Debry, 1969, Mc Fadzean und Yeung, 1969, Laurent und Debry, 1970, Peter et al., 1972). Nach Mc Fadzean und Yeung (1956, 1969) gibt es zwei verschiedene Formen der mit hepatozellulären Karzinomen

einhergehenden Hypoglykämien. Die eine erscheint terminal, ist leicht kontrollierbar und tritt bei schnell wachsenden, wenig differenzierten Tumoren auf. Ursachen sind vermehrter Glukoseverbrauch des Tumors bei vermindertem hepatischem Glukoseangebot infolge weitgehender Zerstörung des funktionsfähigen Leberparenchyms. Beim zweiten Typ, einem gut differenzierten, langsam wachsenden Tumor, treten die Hypoglykämien zwei bis zehn Monate prä mortal auf und sind kaum kontrollierbar. Offenbar entwickelt sich hier schon frühzeitig -infolge eines Defektes glykogenolytischer Enzyme- eine Glykogenose, die als zusätzlicher Faktor hypoglykämieauslösend wirkt.

Bei einem dritten erstmals von Yeung et al., (1973) beschriebenen Tumortyp manifestiert sich die Hypoglykämie ebenfalls relativ früh und ist klinisch kaum zu beherrschen. Anstelle der pathologischen Glykogenspeicherung findet sich eine ausgeprägte Lipidakkumulation im Tumorgewebe, die Yeung in einen ursächlichen Zusammenhang mit der Hypoglykämie bringt. Er nimmt an, daß infolge eines Blockes der Glukoneogenese im Tumor Substrate des Citratzyklus vermehrt zur Lipogenese verwendet werden.

Es ist naheliegend die beiden Charakteristika des von uns untersuchten Tumors, übermäßige Glykogenspeicherung und ausgeprägte Lipidanhäufung mit den von McFadzean u. Yeung (1969) beschriebenen pathogenetischen Mechanismen in Verbindung zu bringen. Glykogen- und Fettanreicherung können als morphologische Substrate der Stoffwechselentgleisungen G l y k o g e n o s e und vermehrte L i p o g e n e s e angesehen werden. Inwieweit beide Faktoren ursächlich für die Hypoglykämieauslösung

verantwortlich sind, ist aus morphologischer Sicht nicht zu entscheiden, doch konnte in den bisher erschienenen Arbeiten durch eine Vielzahl klinischer Untersuchungen ein solcher Zusammenhang zumindest sehr wahrscheinlich gemacht werden.

Im Gegensatz zu Fall 1 bereitet die histologische Diagnose des Tumors von Fall 2 weniger Schwierigkeiten. Die ausgeprägte Zell- und Kernpolymorphie, das infiltrierende und destruierende Wachstum der Geschwulstverbände mit Nachahmung der trabekulären Leberstruktur sind typische Merkmale, die die Zuordnung zur Gruppe "hepatic-type" (Anthony, 1973), der "hepatozellulären, leberzellähnlichen" oder "trabekulären" (Köhn, 1955, Hamperl, 1970) Karzinome bestimmen.

Insgesamt ergab die genaue histologische Untersuchung beider Tumoren deutliche Strukturunterschiede, die eine Differenzierung und Einordnung in verschiedene morphologische Untergruppen primärer Leberkarzinome rechtfertigt. Darüberhinaus konnten durch zusätzliche histochemische Methoden wie Fett- und PAS-Färbung wertvolle Hinweise bezüglich der Pathogenese der Hypoglykämieauslösung gewonnen werden.

Im folgenden soll untersucht werden, inwieweit die ultrastrukturelle Analyse weitere Unterscheidungskriterien liefert, die eventuell der Klärung funktioneller Vorgänge dienen. Entsprechend der neuen Größenordnung sind solche Differenzierungsmerkmale weniger im Bereich der Zellverbände, sondern in der Anordnung der Zellorganellen zu suchen, die im einzelnen im

Vergleich mit den in der Literatur dargestellten Befunden diskutiert werden.

Vergrößerte, pleomorphe Zellkerne sowie zytoplasmatische Kerneinschlüsse sind typische Zeichen von Tumorzellen, die sowohl bei menschlichen Leberzellkarzinomen als auch bei experimentell induzierten Hepatomen fast regelmäßig ultrastrukturell nachweisbar sind (Oberling und Bernhard, 1955, Meine et al., 1957, Bairati, 1961, Hoshino, 1961, 1963, Heinlein et al., 1962, David, 1964, Hiruban et al., 1965, Theron, 1965, Ghadially und Parry, 1966, Creemers und Jadin, 1968, Allen et al., 1970, Williams, 1970, Karasaki, 1970, Schaff et al., 1971, Bader et al., 1971, O'Connor et al., 1972, Malik, 1972).

Vor allem die kernfremde Substanzen enthaltenden Einschlusskörperchen haben wegen ihrer auffälligen Struktur sehr frühzeitig Interesse geweckt (Leduc und Wilson, 1959, Hoshino, 1961) und werden heute allgemein als Einbuchtungen der Kernmembran mit Einstülpung von Zytoplasmamaterial anerkannt (Karasaki, 1970, Kendrey, 1970). Cossel (1964) konnte solche Kerneinschlüsse auch bei lebergesunden Patienten beobachten, was darauf hinweist, daß es sich nicht um ein tumorspezifisches Merkmal handelt, sondern lediglich als Zeichen eines besonders intensiven Stoffaustausches mit Vergrößerung der Grenzfläche zwischen Kern und Zytoplasma anzusehen ist (David, 1967, Schaff, 1973). Nach Schaff sind solche Zytoplasmainvaginationen besonders deutlich und häufig bei Tumorzellen nach zytostatischer Behandlung zu finden. Ob diesen Kerneinschlüssen, wie Rouiller und Jézéquel (1963) vermuten,

eine der Pinozytose oder Phagozytose vergleichbare funktionelle Bedeutung zukommt, ist zur Zeit noch zweifelhaft.

In Übereinstimmung mit unseren elektronenmikroskopischen Befunden werden vergrößerte, multiple Nukleoli mit deutlich hervortretendem Nukleolone-ma bei menschlichen Karzinomen von Ghadially und Parry (1966) Toker und Trevino (1966), Schaff et al. (1971) sowie O'Connor et al. (1972) beschrieben; bei chemisch erzeugten Tumoren von Bairati (1960) Allen (1970) u.v.a. Welche Bedeutung dieser Hyperplasie zukommt, ist letztlich noch ungeklärt, zumal es sich wiederum nicht um ein spezifisches Merkmal handelt. Geht man jedoch davon aus, daß zwischen charakteristischer Struktur und funktioneller Aktivität des Nukleolus eine direkte Abhängigkeit besteht (Fawcett, 1973) so wäre an eine Aktivierung des Nukleinsäurestoffwechsels zu denken, was mit der allgemein anerkannten erhöhten Stoffwechselaktivität der Tumorzelle übereinstimmen würde.

Die in der Literatur beschriebenen ultrastrukturellen Veränderungen bei Mitochondrien in Tumorzellen sind sehr unterschiedlich. Einige Autoren fanden ihre Anzahl verringert (Bairati, 1960, Toker und Trevino, 1966, Malick, 1972), andere erhöht (Creemers und Jadin, 1968) oder unverändert (Tanikawa, 1968). Hinsichtlich Größe, Form und Anordnung der Cristae sind die Befunde ebenfalls widersprechend. Confer (1965) Ghadially und Parry (1966) beobachteten vergrößerte, geschwollene Mitochondrien, O'Connor et al. (1972) pleomorphe mit regelmäßiger Cristaeverteilung. Schaff et al., (1973) sowie Creemers und

Jadin (1968) beschreiben in Übereinstimmung mit unseren eigenen Befunden eine beträchtliche Variabilität dieser Zellorganellen, wobei neben regelrecht ausgebildeten Mitochondrien solche mit ausgeprägter hydropischer Schwellung, Matrixverdichtung, Verkürzung, Fragmentierung oder Verminderung der Cristae zu finden sind. Umfassende tabellarische Übersichten über mitochondriale Veränderungen bei experimentellen Tumoren, die mit verschiedenen chemischen Agentien induziert wurden, finden sich bei Murray et al. (1968) sowie bei Svoboda und Higginson (1968).

Zusammenfassend fällt bei der Beurteilung all dieser Arbeiten die Inhomogenität der mitochondrialen Reaktion auf. Bannasch (1968) nimmt an, daß das variable, unterschiedliche Verhalten der Mitochondrien als allgemeines Merkmal der Kanzerogenese anzusehen ist. Die Ursachen für dieses Individualverhalten sind unbekannt, doch läßt sich so, zumindest teilweise, die große Variationsbreite feinstruktureller Veränderungen innerhalb eines Tumors erkennen.

Interessant in diesem Zusammenhang ist die Frage, ob die Mitochondrienveränderungen als sekundäre Folge der Disorganisation des endoplasmatischen Retikulums anzusehen sind (Theron und Mekel, 1964) oder ob sie primär nach Warburg's Hypothese infolge des Sauerstoffmangels geschädigt werden. Nach neueren experimentellen Ergebnissen scheint das Ergastoplasma eine entscheidende Rolle in der

Kanzerogenese zu spielen, während die Mitochondrien als relativ widerstandsfähige Zellorganellen erst spät morphologische Veränderungen aufweisen (Pitot et al., 1965, Pitot, 1964, 1969, Murray et al. 1968).

Unsere eigenen Befunde zeigen unterschiedliche Ausprägungen der Disorganisation des endoplasmatischen Retikulums. Während die Tumorzellen des Falles 1 im wesentlichen durch den Verlust der lamellaren Ergastoplasmastruktur und Zerfall der Membranen in kleine Bruchstücke charakterisiert sind, zeigen die von Fall 2 ein fortgeschrittenes Stadium der Disorganisation. Starke Dilatation der Zysternen des rauhen endoplasmatischen Retikulums, herdförmiger Verlust des Ribosomenbesatzes, mit Vermehrung der freien Ribosomen, sowie Vesikulation und Proliferation des agranulären endoplasmatischen Retikulums kennzeichnen diesen Tumor.

Vergleicht man die Befunde mit den in der Literatur beschriebenen, so ergeben sich eine Reihe von Übereinstimmungen. Bei menschlichen Leberkarzinomen konnten Ghadially und Parry (1966), Toker und Trevino (1966), Creemers und Jadin (1968) sowie Schaff et al. (1973) Degranulation, Vesikulation und Dilatation des granulären endoplasmatischen Retikulums beobachten. O'Connor et al. (1972) fand daneben noch eine Vermehrung des glatten endoplasmatischen Retikulums ebenso wie Flaks (1968), Williams (1970) und Merkow et al. (1971), (1972).

Über die Bedeutung der endoplasmatischen Disorganisation können aus morphologischer Sicht nur mehr oder minder hypothetische Aussagen gemacht werden, da diese Veränderungen als Ausdruck einer allgemeinen, unspezifischen Reaktionsweise bei verschiedenen menschlichen Lebererkrankungen sowie experimentellen Einwirkungen an Versuchstieren beobachtet werden (Cossel, 1964). Gesichert scheint ein alternierendes Verhalten zwischen Glykogenschwund und Proliferation des endoplasmatischen Retikulums zu sein (Fawcett, 1955, Porter und Bruni, 1959, de Man und Block, 1965, Bannasch, 1968), wofür auch das völlige Fehlen von Glykogen und die ausgeprägte Hyperplasie des endoplasmatischen Retikulums in den Tumorzellen des Falles 2 sprechen. Nach Oberling und Rouiller (1956) sowie Mölbert (1957) ist die hochgradige Vermehrung und Erweiterung des endoplasmatischen Retikulums das feinstrukturelle Äquivalent der sogenannten hydropischen Degeneration der Leberzelle, ist letztlich also Ausdruck einer Stoffwechselinsuffizienz. Im allgemeinen jedoch wird als Ursache der Hyperplasie des endoplasmatischen Retikulums eine Entkoppelung der zytoplasmatischen Proteinsynthese angenommen (Bruni, 1962, Bruni und Porter, 1964), wofür nach Theodossiou^{et al.} (1971) neuere, vergleichende biochemische und elektronenmikroskopische Studien sprechen.

Ein weiteres Differenzierungsmerkmal der beiden untersuchten Tumoren ist ihr unterschiedlicher Gehalt an Lysosomen. Während beim ersten Fall primäre und sekundäre Lysosomen sowie Microbodies vermehrt nachweisbar sind, ist ihre Zahl beim zweiten Tumor deutlich verringert. Worauf diese Unterschiede zurückzuführen sind, läßt sich zur Zeit nicht eindeutig

beantworten, was letztlich mit dem Mangel an exakten experimentellen Ergebnissen zur Genese und Funktion dieser Organellen zusammenhängt. Geht man davon aus, daß die als Lysosomen bezeichneten heteromorphen Strukturen Ausdruck der hydrolytischen Aktivität der Zelle sind, daß ihnen eine entgiftende, Fremdstoffe abbauende Funktion zukommt, so bedeutet ihr Fehlen ein Daniederliegen spezifischer Abwehrkräfte der Zelle. Die Tumorzelle ist nicht mehr fähig, das Zellgleichgewicht durch die regulative Funktion der Lysosomen aufrecht zu erhalten. Nach Ghadially und Parry (1966) sowie Parry und Ghadially (1967) ist dies als Zeichen einer "funktionellen Anaplasie" zu werten. Leider sind die in der Literatur berichteten Ergebnisse dieser Erklärung nicht ohne weiteres unterzuordnen. Während einige Autoren wie Heine et al. (1957), Hoshino (1962), Lee und Aleyassine (1971), Keeley et al. (1972) sowie Malick (1972) Lysosomen gar nicht erwähnen, berichten andere lediglich von einem Anstieg der Microbodies (Hruban et al., 1965, Toker und Trevino, 1966, Creemers und Jadin, 1968, Schaff et al., 1973) beziehungsweise einer variablen uneinheitlichen Lysosomenfraktion. (Flaks, 1968, Allen et al., 1970, Williams, 1970, Merkow et al., 1971, 1972, O'Connor et al., 1972). Nur Higginson und Svoboda (1970) sowie Murray et al. (1968) weisen darauf hin, daß eine Reihe von Untersuchungen für einen Zusammenhang zwischen Lysosomenverlust und Tumorstadium, also Entdifferenzierungsgrad, sprechen. Dieser Hypothese würde zumindest tendenziell auch die vorliegenden eigenen Ergebnisse entsprechen.

Wie schon erwähnt unterscheiden sich die beiden von uns untersuchten Tumoren unter anderem durch ihren Glykogengehalt. Während der Tumor des mit Hypoglykämien einhergehenden Falles 1 Areale ausgedehnter Glykogenanhäufungen enthält, ist der von Fall 2 durch einen fast totalen Glykogenschwund charakterisiert. Die in der Literatur berichteten Angaben über Glykogen bei Lebertumoren sind nicht ganz einheitlich, doch werden neben variabler Verteilung (Flaks, 1968, Schaff et al., 1971, O'Connor et al., 1972) vor allem Glykogenreduktion beschrieben (Rouiller, 1964, Ghadially und Parry, 1966, Allen et al., 1970). Nach Bannasch und Mitarbeiter ist die ausgereifte Tumorzelle durch den Verlust von Glykogen gekennzeichnet. (Bannasch und Müller, 1964, Bannasch, 1968, Bannasch und Klinge, 1971, Bannasch et al., 1972). Nach seinem mittlerweile auch von anderen Autoren bestätigten Modell der Kanzerogenese würde der Tumor von Fall 1 einem frühen Stadium der Hepatomentwicklung entsprechen. Hinweise dafür sind auch die im Vergleich zum Tumor des Falles 2 geringere Ausprägung der endoplasmatischen Disorganisation, der Lysosomenreichtum, die nicht so deutliche Hyperplasie von Nukleus und Kernkörperchen und die häufig intakte Mitochondrienanordnung. Andererseits ist das charakteristische Merkmal dieses Tumors, die ausgeprägte Vakuolisierung, bisher nicht beschrieben worden.

Gehen wir auf Grund der lichtoptischen Befunde davon aus, daß es sich um Fettvakuolen handelt, so lassen sich ebenfalls keine in der Literatur dargestellten Parallelen dieses Ausmaßes finden. Nach Cossel (1964) werden Fetteinlagerungen von zahlreichen Untersuchern

in normalen, kranken und durch experimentelle Eingriffe veränderten Leberzellen beobachtet. Doch sind speziell bei Leberkarzinomen Fetttröpfchen in solcher Anhäufung bisher nicht beschrieben worden. Offensichtlich liegt hier ein Zusammenhang mit der besonderen, hypoglykämieauslösenden Funktion des Tumors vor, wie eingangs schon erwähnt wurde.

Aus morphologischer Sicht kann über die Genese der Fettvakuolen nur Spekulatives geäußert werden, was sich zum Teil in der älteren elektronenmikroskopischen Literatur spiegelt, wo eine mögliche Umwandlung von Mitochondrien in Lipidtröpfchen diskutiert wird (nach Cossel, 1964). Auch bei unseren Bildern könnte an eine vakuolige Umwandlung von Mitochondrien in Lipidtröpfchen gedacht werden, doch erscheinen uns solche Interpretationen zu gewagt. Vielmehr ist in Übereinstimmung mit biochemischen Ergebnissen an eine zytoplasmatische Neubildung von Fettsäuren mit anschließender Triglyceridsynthese zu denken.

Zusammenfassend fällt bei der ultrastrukturellen Beurteilung der Befunde die Unspezifität der einzelnen Veränderungen auf. Gleiche oder ähnliche Alterationen von Zellorganellen lassen sich nicht nur bei den durch verschiedenste Agentien induzierten experimentellen Lebertumoren nachweisen, sondern kommen auch bei Einwirkung nicht kanzerogener Stoffe oder als Varianten der gesunden Leber vor. Das bedeutet, daß nicht qualitative, singulär auftretende Merkmale die Feinstruktur einer Tumorzelle charakterisieren, sondern daß ein Spektrum mehr oder minder ausgeprägter

allgemeiner, d.h. unspezifischer Veränderungen vorliegt. So weist auch die Gegenüberstellung der beiden untersuchten Tumoren eher quantitative, also den Ausprägungsgrad betreffende Unterschiede auf. Andererseits hat die Elektronenmikroskopie gerade beim ersten Fall über die lichtmikroskopische Beurteilung hinausgehende Hinweise erbracht, die eine tumoreigene Produktion von Insulin oder insulinähnlichen Stoffen, wie sie ja klinischerseits vermutet wurde, mit großer Wahrscheinlichkeit ausschließen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Der histologische und ultrastrukturelle Vergleich eines mit ausgeprägten Hypoglykämien einhergehenden primären Leberkarzinoms (Madler-Wolfer-Elliott-Syndrom) mit einem ubiquitären hepatozellulären Karzinom ohne klinische Besonderheiten sollte Kriterien zur Differenzierung beider Tumorarten liefern, sowie Aufschlüsse zur Pathogenese der Hypoglykämieauslösung erbringen.

Die elektronenmikroskopische Analyse beider Tumoren zeigt eine Reihe unspezifischer Veränderungen wie Kernhyperplasie, Mitochondrienalteration, zytoplasmatische Kerneinschlüsse und Disorganisation des endoplasmatischen Retikulums, die alle bei dem ubiquitären Karzinom markanter hervortreten und als Zeichen einer stärkeren Entdifferenzierung zu werten sind. Neben diesen quantitativen Unterschieden finden sich als echte Differenzierungsmerkmale bei dem mit Hypoglykämien einhergehenden Tumor Areale ausgeprägter Glykogenspeicherung sowie eine deutliche Lipidanhäufung in Form von Fettvakuolen.

Beide Charakteristika können als morphologische Substrate der Stoffwechselentgleisungen Glykogenose und vermehrte Lipogenese angesehen werden und damit in einen ursächlichen Zusammenhang mit der Hypoglykämieauslösung gebracht werden.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLEN, J.R.,
L.A. CARSTENS,
D.H. NORBACK,
P.M. LOH: Ultrastructural and biochemical changes associated with pyrrolizidine - induced hepatic megalocytosis.
Cancer Res. 30, 1857-1866 (1970)
2. ALPERT, M.E.,
M.S.R. HUTT,
G.N. WOGAN,
C.S. DAVIDSON: Association between aflatoxin content of food and hepatoma frequency in Uganda.
Cancer 28, 254-260 (1971)
3. ANDERSON, J.F.,
A.L. WEBSTER,
W. WYPKEMA: Primary malignant hepatoma associated with hypoglycemia.
S.Afr. med. J. 41, 505-506 (1967)
4. ANTHONY, P.P.: Primary carcinoma of the liver: a study of 282 cases in Ugandan Africans
J.Path. 110, 37-48 (1973)
5. BADER, G.,
D. STILLER,
K. ULLRICH: Elektronenmikroskopische Veränderungen der toxisch geschädigten und proliferierenden Leberzelle bei chronischer Diaethylnitrosaminygabe.
Arch. Geschwulstforsch. 37, 327-343 (1971)
6. BAIRATI, A.: Submicroscopic structure of Yoshida hepatoma.
Cancer Res. 21, 989-992 (1961)
7. BANNASCH, P.,
H.A. MÜLLER: Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Wirkung von N-Nitrosomorpholin auf die Leber von Ratte und Maus.
Arzneimittelforsch. 14/7, 805-814 (1964)

8. BANNASCH, P.: The cytoplasm of hepatocytes during carcinogenesis.
Recent Res.Canc.Res. 19, (1968)
9. BANNASCH, P., hepatocelluläre Glycogenose und Hepatom-
O. KLINGE: bildung beim Menschen.
Virchows Arch. 352, 157-164 (1971)
10. BANNASCH, P., Reversible und irreversible Veränderungen
J. PAPENBURG, am Zytoplasma der Leberparenchym-
W. ROSS: zellen bei Nitrosomorpholin-vergifteten
Ratten.
Z.Krebsforsch. 77, 108-133 (1972)
11. BECKER, F.F.: Hepatoma-Nature's model tumor.
Americ. J. Path. 74, 179-214 (1974)
12. BRUNI, L.: Observations on the fine structure of
slow and fast growing rat hepatomas.
Vth Internat. Congr.Electron micros.
Philadelphia (1962)
13. BRUNI, L., Fine structure differences in trans-
K.R.PORTER: plantable rat hepatomas of different
degrees of malignancy.
Amer.J.Path. 44, 10-25 (1964)
14. COLWELL, J.A., Studies of Insulin and growth hormone
J.F. WILBER: secretion in a subject with hepatoma
and hypoglycemia.
Diabetes 20, 607-614 (1971)

15. CONFER, D.B., Tumors of the liver in C_3H mice after
R.J. STENGER: long-term carbon tetrachloride admini-
stration. A light and electronmicroscopic study.
Amer.J.Path. 46, 19a (1965)
16. COSSEL, L.: Die menschliche Leber im Elektronen-
mikroskop.
Jena, 1964
17. CREEMERS, J., Ultrastructure of a human hepatocellular
J.M. JADIN: carcinoma.
J.Microscopie 7, 257-264 (1968)
18. DAVID, H.: Submikroskopische Ortho- und Pathomorpho-
logie der Leber. Textband und Atlas.
Berlin, 1964
19. DAVID, H.: Elektronenmikroskopische Organpathologie
Berlin, 1967
20. DE MAN, J.C.H., Relationship between glycogen and agra-
A.P.R.BLOK: nular endoplasmic reticulum in rat he-
patic cells.
J.Histochem.Cytochem. 14, 135-146 (1966)
21. DOLL, R., Cancer incidence in five continents.
P. PAYNE, Berlin, 1966
J.WATERHOUSE:
22. ELLIOTT, C.A.: Hepatic hypoglycemia associated with
primary liver-cell carcinoma.
Trans.Ass.Amer.Physicians 44, 120 (1929)

23. FAWCETT, D.W.: Observations on the cytology and electron microscopy of hepatic cells. J.Nat. Cancer Inst. 15, 1475-1503 (1955)
24. FAWCETT, D.W.: Atlas zur Elektronenmikroskopie der Zelle.
München - Berlin - Wien , 1973
25. FLAHS, B.: Permanent changes in the fine structure of rat hepatocytes following prolonged treatment with 2-Acetylaminofluorene. Eur.J. Cancer 4, 297-304 (1968)
26. FLAHS, B.: Fine structure of primary rat hepatoma induced by 2-Acetylaminofluorene feeding.
Eur.J.Cancer 4, 513-521 (1968)
27. FOLSCH, E.P.,
P. WAHL,
J. DREWS,
R. RÜFER: Untersuchungen zur tumorbedingten Hypoglykämie ohne Hyperinsulinismus. Helv.Med.Acta 31, 545-552 (1964)
28. FRERICHS, H.,
B. WILLMS,
W. CREUTZFELDT: Further evidence for an inhibition of hepatic gluconeogenesis in hypoglycemia due to non-insulin-productin tumors. Horm.Metab.Res. 1, 89-90 (1969)
29. FRERICHS, H.,
B. WILLMS,
H. KASPER,
G. CREUTZFELDT,
W. CREUTZFELDT: Contribution to the pathogenesis of tumor hypoglycemia. Europ. J.clin. Invest. 1, 2 (1970)

30. FROESCH, E.R., Hypoglykämie bei extrapankreatischen
A. JAKOB, Tumoren.
A. LABHART: In: Nebenschilddrüse und endokrine
Regulation des Calciumstoffwechsels.

Spontanhypoglykämie, Glukagon.
14. Symposium der Deutschen Gesellschaft
für Endokrinologie. S. 132-144
Berlin - Heidelberg - New York, 1968
31. FROESCH, E.R., Zur Pathogenese der tumorbedingten
W. BÜRGELI, hypoglykämien ohne Hyperinsulinismus.
W. ZIEGLER, Schweiz.med.Wschr. 93, 1250-1255 (1963)
P. BALLY,
A. LABHART:
32. GHADIALLY, F.N. Ultrastructure of a human hepatocellu-
E.W. PARRY: lar carcinoma and surrounding non-neo-
plastic liver.
Cancer 19, 1989-2004 (1966)
33. HAMPERL, H.: "Adrenal Rest-Tumors" (Hypernephromas)
of the liver.
Z.Krebsforsch. 74, 310-317 (1970)
34. HEINE, U., Elektronenmikroskopische Untersuchungen
A. GRATTI, an normalen Zellen und Tumorzellen der
H.J. HELMCKE, Rattenleber.
A. RANDT: Ztschr.ärztl.Fortbild. 51, 648-652
(1957)
35. HEINLEIN, H., Neuere Erkenntnisse zur Geschwulstbil-
G. HÜBNER, dung in der Leber.
K.J.LENNARTZ, Klin.Wschr. 40, 121-125 (1962)
G.RUDOLPH

36. HERXHEIMER, G.: Primäres Leberkarzinom
In: HENKE, H., O. LUBARSCHE
Handbuch der Path. Anat. V Berlin, 1930
37. HIGGONSON, J., Primary carcinoma of the liver as a
D.J. SVOBODA: Pathologist's problem.
Pathol. Annu. 5, 61-89 (1970)
38. HOSHINO, M.: The deep invagination of the inner nucle-
ar membranes into the nucleoplasm in the
ascites hepatoma cells.
Exper. cell Res. 24, 606-609 (1961)
39. HOSHINO, M.: Submicroscopic characteristics of four
strains of Yoshida ascites hepatoma of
rats: A comparative study
Cancer Res. 23, 209-216 (1963)
40. HRUBAN, Z., Fine structure of transplantable hepa-
M. SWIFT, tomas of the rat.
M. RECHCIGL J. Natl. Cancer Inst. 35, 459-495 (1965)
41. HRUBAN, Z., Fine structure of spontaneous hepatic
W.H. KIRSTEN, tumors of male c3H/FGs mice.
A. SLESERS Laborat. Invest. 15, 576-588 (1965)
42. HUTT, M.S.R.: Epidemiology of human primary carcinoma
of the liver.
In: "Liver Cancer" IARC Scientific
Publications No.1, Lyon 1971
43. JAKOB, A., The pathogenesis of tumor hypoglycemia:
U.A. MEYER, Blocks of hepatic glucose release and
R. FLURY, of adipose tissue lipolysis.
W.H. ZIEGLER, Diabetologia 3, 506-514 (1967)
A. LABHART
E.R. FROESCH

44. KARASAKI, S.: An electron microscope study of intranuclear canaliculi in Novikoff hepatoma cells.
Cancer Res. 30, 1736-1742 (1970)
45. KEELEY, A.F.,
O.A. ISERI,
L.S. GOTTLIEB: Ultrastructure of hyaline cytoplasmic inclusions in a human hepatoma: relationship to Mallory's alcoholic hyalin.
Gastroenterology 62, 280-293 (1972)
46. KENDREY, G.: Inclusion bodies in human primary liver carcinoma.
Acta Morphol. Acad. Sci. Hung 18, 395-401 (1970)
47. KRACHT, J.: Paraneoplastische Endokrinopathien
In: LINDENSCHMIDT, O.
Pathophysiologische Grundlagen der Chirurgie.
Stuttgart, 1968
48. KÖHN, K.: Der primäre Leberkrebs.
Berlin, 1955
49. KREISBERG, R.A., Tumor hypoglycemia: A heterogeneous
L.F.PENNINGTON: disorder.
Metabolism 19, 445-452 (1970)
50. KRÖNIG, B.,
E.U.BAAS: Paraneoplastische Hypoglykämie bei Leberkarzinom. Kasuistischer Beitrag zum Nadler-Wolfer-Elliott-Syndrom.
Dtsch.Med.Wschr. 98, 322-325 (1973)

51. LANDAU, B.R.,
N. WILLS,
J.W. CRAIG,
J.R. LEONARDS,
T. MORIWAKI:
The mechanism of hepatoma-induced hypoglycemia.
Cancer 6, 1188-1196 (1962)
52. LAURENT, J.,
G. DEBRY:
Les tumeurs hypoglycémiantes, pancréatiques et extrapancréatiques.
Probl. actuels endocrinol. Nutr. 13
155-176 (1969)
53. LAURENT, J.,
G. DEBRY:
Syndrome des Nadler, Wolfer, Elliott (Hépatome hypoglycémiant)
Sem.Hop.Paris 46, 1645-1651 (1970)
54. LEDUC, E.H.,
J.W.WILSON:
An electron microscopic study of intra nuclear inclusions in mouse liver and hepatoma.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 6, 427-430 (1959)
55. LEE, S.H.,
H. ALEYASSINE:
Morphologic changes in the liver of mice bearing Ehrlich ascites tumor.
Lab.Invest. 24, 513-522 (1971)
56. LIN, T.Y.:
Primary cancer of the liver.
Scandin. J. Gastroenterol. 6, 223-241 (1966)
57. MALICK, L.E.:
Ultrastructure of transplantable mouse hepatomas with different growth rates.
J. Natl. Cancer Inst. 49, 1039-1055 (1972)

58. MC DONALD, R.A.: Primary carcinoma of the liver.
Arch. intern. Med. 99, 266 (1957)
59. MERKOW, L.P.,
S.M. EPSTEIN,
M. SLIFKIN,
M. PARDO:
Ultrastructural alterations within
hyperplastic liver nodules induced
by Ethionine.
Cancer Res. 31, 174-180 (1971)
60. MERKOW, L.P.,
S.M. EPSTEIN,
M. SLIFKIN,
E. FARBER,
M. PARDO:
The cellular analysis of liver carcinoma.
V. Ultrastructural alterations
within hepatocellular carcinoma induced
by Ethionine.
Lab. Invest. 26, 300-305 (1972)
61. MC FADZEAN, A.J.S., hypoglycemia in primary carcinoma
T.T. YEUNG:
of the liver.
Arch. intern. Med. 98, 720-730 (1956)
62. MC FADZEAN, A.J.S., Further observations on hypoglycemia in hepatocellular carcinoma.
T.T. YEUNG:
Am. J. Med. of Medicine 47, 220-235
(1969)
63. MÖLBERT, E.:
Das elektronenmikroskopische Bild der
Leberparenchymzelle nach histotoxischer Hypoxydose.
Beitr. path. Anat. 118, 203- 227 (1957)
64. MURRAY, R.K.,
L. KHAIRALLAH,
W. RAGLAND,
H. PITOT:
The biochemical morphology and
morphogenesis of hepatomas.
In: International Review of experimental Pathology 6, 229-283 (1968)

65. NADLER, W.H.,
J.A. WOLFER
hepatogenic hypoglycaemia associated
with primary liver carcinoma.
Arch. intern.Med. 44, 700 (1929)
66. OBERLING, C.,
W. BERNHARD:
L'ultrastructure de cellule cancéreu-
se. In: Problèmes des structures, d'
ultrastructures et de fonctions
cellulaires
ed. J.A. THOMAS, Paris 1955
67. OBERLING, Ch.,
CH. ROUILLER:
Les effets de l'intoxication aigue
au tetrachlorure de carbone sur le
foie de rat. Étude au microscope
electronique.
Ann.Anat. path. 1, 401-427 (1956)
68. O'Conor, G.T.,
T.S. TRALKA,
E. HENSON,
C.L.VOGEL:
Ultrastructural survey of primary
liver cell carcinomas from Uganda.
J.Natl. Cancer Inst. 48, 587-603
(1972)
69. OETTL, A.G.:
Cancer in Africa, especially in re-
gions south of the Sahara.
J. Natl. Cancer Inst. 33, 383-439
(1964)
70. PACK, G.T.,
A.H. ISLAMI:
Tumors of the liver.
Recent Results in Cancer Research.
Vol. 26, New York, 1970
71. PARRY, E.W.,
F.N. GHADIALLY:
Ultrastructural changes in the liver
of tumor-bearing rats during the
terminal stages of life.
Cancer 19, 821-830 (1966)

72. PETER, B., Deux cas d'hépatome avec hypoglycémie
J.M. BROGARD, Diabete 20, 107-111 (1972)
F. KUNTZMANN,
P. MAEGELE,
M. DORNER:
73. PITOT, H.C.: Some biochemical aspects of experi-
 mental liver cancer.
 Federation Proc. 21, 1124-1129 (1964)
74. PITOT, H.C., Template stability of some enzymes in
C. PERAINO, rat liver and hepatoma.
Jr. C. LAMAR, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 54, 845-
A.L. KENNAN: 851 (1965)
75. PITOT, H.C.: Endoplasmatic reticulum and phenotypic
 variability in normal and neoplastic
 liver.
 Arch. Path. 87, 212-221 (1969)
76. PORTER, K.R., An electron microscope study of the
C. BRUNI: early effects of 3'Me-DAB on rat
 liver cells.
 Cancer Res. 19, 997-1010 (1959)
77. ROSSELIN, G.R., Insuline, glucagon et hormone soma-
P. ASSAN: trope plasmatiques dans cinq cas de
P. FREYCHET, tumeurs extrapancréatiques hypogly-
J. DOLAIS, cémiantes.
G. TOHOBROUTSKY: Presse med. 75, 1045-1050 (1967)
78. ROUILLER, Ch. (ed.): The liver
 Vol. 2, S. 335-478
 London, 1964

79. ROUILLER, Ch.,
A.M. JÉZEQUEL: Electron microscopy of the liver
In: The liver (ed.) ROUILLER, Ch.
Vol. 1, S. 190-204, (1967)
80. SCHAFF, Z.,
A. LAPIS,
L. SÁFRANY: The ultrastructure of primary hepato-
cellular cancer in man.
Virchows Arch. 352, 340-358 (1973)
81. SVOBODA, D.,
J. HIGGINSON: A comparison of ultrastructural
changes in rat liver due to chemical
carcinogens.
Cancer Res. 28, 1703-1733 (1968)
82. TAKIKAWA, K.: Ultrastructural aspects of the liver
and its disorders.
Berlin, 1968
83. THEODOSSIOU, A.,
P. BANNASCH,
W. REUSS Glykogen und endoplasmatisches Reti-
kulum der Leberzelle nach hohen Dosen
des Carcinogens N-Nitrosomorpholin.
Virchows Arch. B 7, 126-140 (1971)
84. TOKER, C.,
A. TREVINO: Ultrastructure of human primary
hepatic carcinoma.
Cancer 19, 1594-1606 (1966)
85. UENLINGER, E.: Paraneoplastische Syndrome
In: SCHRETZENMAYR, A.
Almanach für Ärztliche Fortbildung
S. 17 - 44
München, 1966
86. WILLIAMS, E.D.: Tumors, hormones and cellular diffe-
rentiation.
Lancet 1969 II, 1108-1110 (1969)

87. WILLIAMS, A.O.: Ultrastructure of rat hepatocarcinoma due to Retrorsine - a Pyrrolizidine Alkaloid.
Afr. J. Med. Sci. 1, 273-283 (1970)
88. YEUNG, T.T.,
D.C.Y. YEUNG,
h.S. AU
Hypoglycemia associated with lipid accumulation in primary hepatocellular carcinoma.
Cancer 32, 1482-1489 (1973)

LEBENS LAUF

Am 29.7.1947 wurde ich als Tochter des kaufmännischen Angestellten Emil Müller und seiner Ehefrau Lissy in Pirmasens geboren. Nach vier Jahren Volksschule wechselte ich 1958 auf das Neusprachliche Gymnasium Pirmasens über, wo ich am 20.10.1966 mein Reifezeugnis erwarb. Im Wintersemester 1966/67 immatrikulierte ich mich an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz als Hauptfachstudierende der Psychologie, einem Studium, das ich nach Diplomvorprüfung im SS 1969 und Diplomhauptprüfung im SS 1971 erfolgreich beendete. Mein medizinisches Zweitstudium begann im WS 1969/70. Bisher abgelegte Prüfungen sind die naturwissenschaftliche Vorprüfung im SS 1970 sowie die ärztliche Vorprüfung im SS 1972. Im August 1971 heiratete ich den wiss.Ass. Dr. med. Peter Höhn, im September 1974 gebär ich meine erste Tochter.

